



III. MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 di Laboratorium Teknologi Pascapanen Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau dan di Laboratorium Mikrobiologi Dinas Perindustrian dan Perdagangan Provinsi Riau.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan

Bahan baku utama yang digunakan dalam penelitian adalah daging kerbau. Bahan pengikat antara lain tepung tapioka dan tepung kulit manggis. Bahan-bahan lain untuk masing-masing perlakuan yaitu es/air es, garam, lada dan bawang putih.

3.2.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas alat untuk membuat adonan bakso, yaitu alat penggiling daging sekaligus pencampur adonan (*food processor*) dan peralatan masak lain seperti kompor, pisau, timbangan, panci, sendok, baskom, talenan dan plastik. Alat untuk analisis mikrobiologi yaitu cawan petri, tabung reaksi, pipet volumetrik, botol media, penghitung koloni (*colony counter*), gunting, pinset, jarum inokulasi (*ose*), *stomacher*, pembakar Bunsen, pH meter, timbangan, *magnetic stirrer*, pengocok tabung (*vortex*), incubator, penangas air, autoklaf, lemari steril (*clean bench*), lemari pendingin (*refrigerator*) dan *freezer*.

3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian ini adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Steel dan Torrie (1991) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan tersebut adalah bakso yang menggunakan tepung tapioka dicampur dengan tepung kulit buah manggis sebanyak 0%; 0,3%; 0,6%; 0,9% dan 1,2%. Perlakuan penelitian meliputi:



P0= Bakso daging kerbau tanpa tambahan tepung kulit manggis (0%)

P1= Bakso daging kerbau + tepung kulit manggis (0,3 %)

P2= Bakso daging kerbau + tepung kulit manggis (0,6 %)

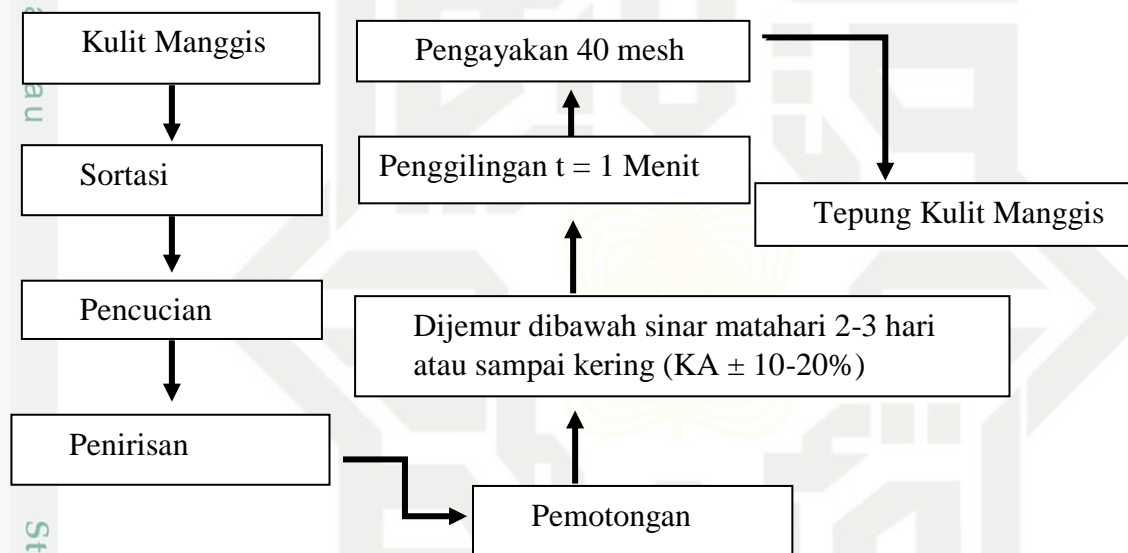
P3= Bakso daging kerbau + tepung kulit manggis (0,9 %)

P4= Bakso daging kerbau + tepung kulit manggis (1,2 %)

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1. Pembuatan Tepung Kulit Manggis

Teknik pembuatan tepung kulit manggis berdasarkan Metriva (1995), dapat dilihat pada Bagan 3.1.



Bagan 3.1. Alur Pembuatan Tepung Kulit Manggis (Metriva, 1995).

3.5 Prosedur Pembuatan Bakso (Aulawi dan Retty, 2009)

Daging kerbau dibersihkan dari lemak permukaan dan jaringan ikat kemudian dipotong kecil-kecil daging digiling sampai halus dengan ditambahkan es 15% dari berat daging. Kemudian ditambahkan bumbu yang terdiri dari merica dan bawang putih (yang telah dihaluskan) masing-masing sebanyak 10% serta garam dapur sebanyak 2,5% dari berat daging. Kemudian ditambahkan tepung kulit buah manggis sesuai perlakuan 0%; 0.3%; 0.6%; 0.9%; 1.2% dari berat daging dan dihomogenkan, selanjutnya adonan dicetak berbentuk bulatan-bulatan dengan berat sekitar 7- 10gram/butir, lalu direndam dalam air (suhu 70–80°C) selama 15 menit. Pematangan bakso dilakukan pada air panas (suhu 100°C) selama 10 menit, kemudian diangkat dan ditiriskan untuk dilanjutkan uji kadar

lemak, kadar abu, kadar air, kadar protein, kadar kolesterol. Komposisi bahan untuk pembuatan bakso daging kerbau dapat di lihat pada tabel 3.2.

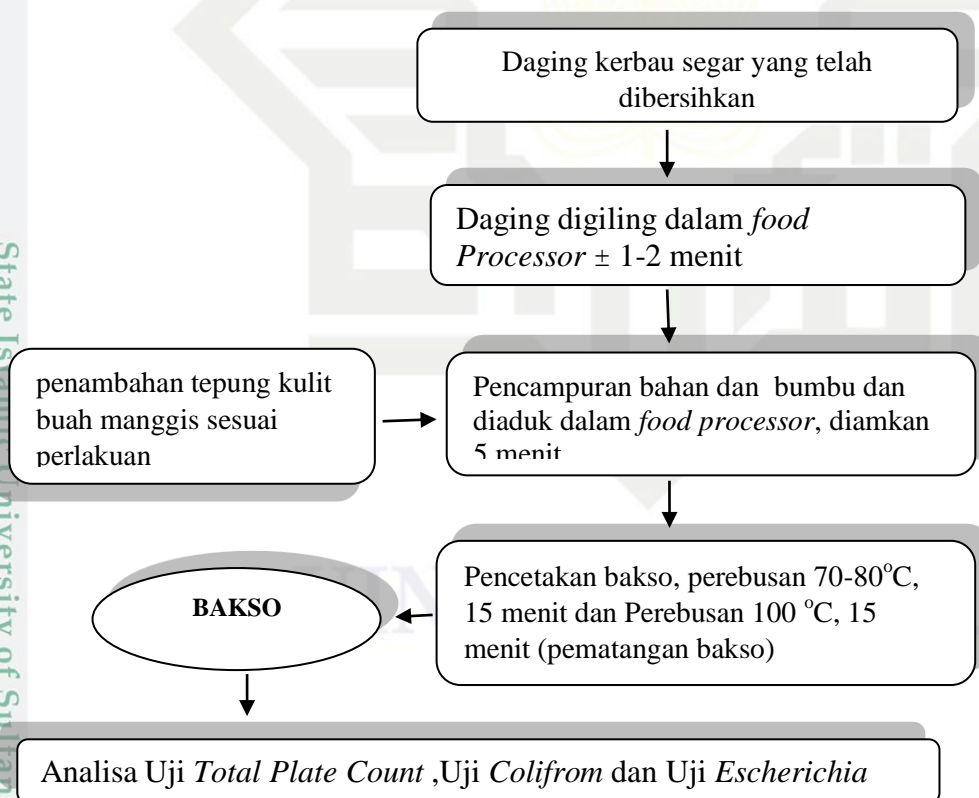
Tabel 3.2. Komposisi Bahan dalam Pembuatan Bakso Kerbau.

Nama bahan	Konsentrasi Tepung Kulit manggis				
	0%	0,3%	0,6%	0,9%	1,2%
Daging kerbau (g)	500	500	500	500	500
Tepung tapioka (g)	100	100	100	100	100
Merica (g)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Bawang putih (g)	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Garam (g)	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Es batu (g)	6	8	10	12	14
Jumlah	615	617	619	621	623

Keterangan: Persentase tepung labu kuning berdasarkan berat filler, sedangkan berat Es batu, garam dan lada berdasarkan total berat adonan.

3.5.1. Alur Pembuatan Bakso

Proses pembuatan bakso menurut Bintoro (2008), dapat dilihat pada diagram alur seperti terlihat pada Bagan 3.3.



Bagan 3.3. Alur Pembuatan Bakso (Bintoro, 2008) yang dimodifikasi



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

3.6. Teknis Pengambilan Data

3.6.1. Pengujian *Total Plate Count (TPC)* SNI 2897:2008

Total Plate Count (TPC) dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Penyiapan contoh timbang contoh padat dan semi padat sebanyak 25 g atau diukur contoh cair sebanyak 25 ml secara aseptik, kemudian dimasukkan dalam wadah steril. Daging yang ditambahkan 225 ml larutan *BPW* 0,1 % steril ke dalam kantong steril yang berisi contoh, homogenkan dengan *stomacher* selama 1 menit sampai dengan 2 menit. Ini merupakan larutan dengan pengenceran 10^{-1}

Cara uji *Total Plate Count (TPC)* yaitu: a) dipindahkan 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml *BPW* untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . b) dibuat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan seterusnya dengan cara yang sama seperti pada butir a), sesuai kebutuhan. c) Selanjutnya dimasukkan sebanyak 1 ml suspensi dari setiap pengenceran ke dalam cawan petri secara duplo. d) ditambahkan 15 ml sampai dengan 20 ml *PCA* yang sudah didinginkan hingga temperatur $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspensi. Supaya larutan contoh dan media *PCA* tercampur seluruhnya, dilakukan pemutaran cawan ke depan dan ke belakang atau membentuk angka delapan dan didiamkan sampai menjadi padat. e) diinkubasikan pada temperatur 34°C sampai dengan 36°C selama 24 jam sampai dengan 48 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik. f) dihitung jumlah koloni pada setiap seri pengenceran kecuali cawan petri yang berisi koloni menyebar (*spreader colonies*). Pilih cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 sampai dengan 250. g)

Penghitungan jumlah kloni di lakukan pada setiap seri pengenceran kecuali cawan petri yang berisi koloni menyebar (*spreader colonies*). dipilih cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 sampai dengan 250. Bila cawan duplo dari pengenceran terendah menghasilkan koloni kurang dari 25, dihitung jumlah yang ada pada cawan dari setiap pengenceran. Rerata jumlah koloni per cawan dan kalikan dengan faktor pengencerannya untuk menentukan nilai *TPC*. ditandai nilai



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

TPC dengan tanda bintang (Tabel 1 nomor 3) untuk menandai bahwa penghitungannya diluar 25 koloni sampai dengan 250 koloni per cawan.

Bila jumlah koloni per cawan lebih dari 250, dihitung koloni-koloni pada cawan untuk memberikan gambaran penyebaran koloni secara representatif ditandai penghitungan TPC dengan tanda bintang untuk menandai bahwa penghitungannya diluar 25 koloni sampai dengan 250 koloni per cawan. Contoh cara perhitungan masukan data hasil perhitungan kedalam rumus $N = \frac{\sum C}{(V \times 1,1 \times d)}$. $\sum C$ = jumlah kloni yang dihitung pada 2 cawan petri, dengan minimum percawan 10 koloni. V = Volume inokulum yang dimasukkan kedalam setiap cawan petri D = Pengenceran pertama yang dilakukan.

3.6.2. Pengujian *Most Probable Number* (MPN) *Coliform* SNI: 7388: 2009

Prinsip penghitungan jumlah *coliform* adalah berdasarkan *Most Probable Number* (MPN) yang terdiri dari uji presumtif (pendugaan) dan uji konfirmasi (peneguhan), jumlah dengan menggunakan media cair dalam tabung reaksi dan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif. Pengamatan tabung positif dapat dilihat dengan timbulnya gas di dalam tabung *durham*.

Pengujian diawali dengan penyiapan sampel bakso sebanyak 25 g secara aseptik kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril yang telah berisi 225 ml larutan *Buffered Pepton Water* 0,1% (BPW 0,1%) steril, lalu dihomogenkan dengan *stomacher* selama 1-2 menit. Larutan yang berbentuk merupakan pengenceran 10^{-1} . Uji pendugaan dilakukan dengan pemindahan 1 ml larutan pengencer 10^{-1} tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml larutan *Buffered Pepton Water* 0,1% (BPW 0,1%) untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Selanjutnya dengan cara yang dibuat pengenceran 10^{-3} . Pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung *Lauryl Sulfate Tryptose Broth* (LSTB) yang berisi tabung *durham*. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur 35°C selama 24-48 jam. Diperhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

Uji peneguhan harus selalu disertai dengan menggunakan kontrol positif. Pengujian dilakukan dengan memindahkan biakan positif dari hasil pendugaan positif dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung *Lauryl Sulfate*



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar UIN Suska Riau.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin UIN Suska Riau.

Tryptose Broth (LSTB). Ke dalam tabung *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB) yang berisi tabung *durham*. Selanjutnya *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB) diinkubasi kembali selama 48 ± 2 jam. Perhatikan adanya gas yang terbentuk ke dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas. Selanjutnya gunakan tabel *Most Probable Number* (MPN) untuk menentukan nilai MPN berdasarkan jumlah tabung *Lactose Bile Broth* (BGLBB) yang positif sebagai jumlah *Coliform* per mililiter atau per gram.

3.6.3. *Escherichia coli* (E. coli) (Lukman dan Trioso 2009)

Prinsip pengujian E.coli menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) dengan menggunakan seri 3 tabung. Pengujian dilakukan dengan uji presumtif (pendugaan) dan uji konfirmasi (peneguhan). Pengujian diawalidengan menyiapkan sampel bakso sebanyak 25 g secara aseptik, kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril yang telah berisi 225 ml larutan *Buffered Pepton Water* 0,1% (BPW 0,1 %) steril, lalu dihomogenkan *stomacher* selama 1-2 menit. Larutan yang terbentuk merupakan pengenceran 10^{-1} . Uji pendugaan dilakukan dengan memindahkan 1 ml larutan pengencer 10^{-1} tersebut dengan menggunakan pipet steril ke dalam 9 ml larutan *Buffered Pepton Water* 0,1% (BPW 0,1 %) untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dengan cara yang sama dibuat pengenceran 10^{-3} . Pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung *Lauryl Sulfate Tryptose Broth* (LSTB) yang berisi tabung *durham*. Inkubasi dilakukan pada temperatur 35°C selama 24-48 jam dan diperhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

Uji peneguhan harus selalu disertai dengan penggunaan kontrol positif. Pengujian dilakukan melalui pemindahan biakan positif dari hasil uji pendugaan positif dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung *lauryl Sulfate Tryptose Broth* (LSTB) ke dalam tabung *Escherichia Coli Broth* (ECB) yang berisis tabung *durham*. Selanjutnya *Escherichia Coli Broth* (ECB) diinkubasi pada temperatur $45,5$ selama 24 ± 2 jam dan bila hasilnya negatif diinkubasikan kembali selama 48 ± 2 jam dan perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.



3.7. Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap 5 perlakuan dan 4 ulangan. Model matematis Rancangan Acak Lengkap (Steel dan Torrie, 1991) adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Pengamatan pada perlakuan ke i dan ulangan ke j

μ : Rataan umum

τ_i : Pengaruh perlakuan ke i

ε_{ij} : Pengaruh acak pada perlakuan ke i dan ulangan ke j

i : 1,2,3,4,5

j : 1,2,3,4

Tabel 3.1. Analisa Sidik Ragam

Sumber	Db	JK	KT	F hit	F table	
					0,05	0,01
Perlakuan	t-1	JKP	KTP	KTP/KTG	-	-
Galat	t (r-1)	JKG	KTG	-	-	-
Total	tr-1	JKT	-	-	-	-

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{y^2}{tr}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} = \sum Y_{ij}^2 - FK$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \sum \frac{y.^2}{r} - FK$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} = JKT - JKP$$

$$\text{Kuadrat tengah perlakuan (KTP)} = JKT/dbP$$

$$\text{Kuadrat tengah galat (KTG)} = JKT/dbS$$

$$F_{hitung} = \frac{KTP}{KTG}$$

Jika hasil analisis sidik ragam menunjukkan perbedaan sangat nyata atau nyata maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) menurut Steel dan Torrie (1991).